

PCTORGANISATION MONDIALE DE LA PROPRIÉTÉ INTELLECTUELLE
Bureau international

DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets ⁵ : A61K 48/00, 37/52, 37/54, 37/66, 9/00 // (A61K 37/52, 37:02) (A61K 37/54, 37:02) (A61K 37/66, 37:52) (A61K 37/66, 37:54)		A1	(11) Numéro de publication internationale: WO 94/19022 (43) Date de publication internationale: 1 ^{er} septembre 1994 (01.09.94)
(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR94/00192 (22) Date de dépôt international: 21 février 1994 (21.02.94) (30) Données relatives à la priorité: 93/02012 22 février 1993 (22.02.93) FR		(74) Mandataire: PHELIP, Bruno; Cabinet Harlé et Phélip, 21, rue de La Rochefoucauld, F-75009 Paris (FR). (81) Etats désignés: AU, CA, JP, US, brevet européen (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). Publiée Avec rapport de recherche internationale.	
(71) Déposants (pour tous les Etats désignés sauf US): INSTITUT PASTEUR [FR/FR]; 28, rue du Docteur-Roux, F-75724 Paris Cédex 15 (FR). INSTITUT NATIONAL DE LA SANTÉ ET DE LA RECHERCHE MÉDICALE (INSERM) [FR/FR]; 101, rue de Tolbiac, F-75654 Paris Cédex 13 (FR). UNIVERSITÉ PIERRE ET MARIE CURIE [FR/FR]; 4, place Jussieu, F-75252 Paris Cédex 05 (FR). (72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants (US seulement): ROTH, Claude [FR/FR]; 26, rue Lalo, F-75116 Paris (FR). KOURILSKY, Philippe [FR/FR]; 1, rue de Montpensier, F-75001 Paris (FR). MIR, Lluís [FR/FR]; 22, allée des Vaubépins, F-91370 Verrières-le-Buisson (FR). KLATZMANN, David [FR/FR]; 11, rue du Tage, F-75013 Paris (FR). SALZMANN, Jean-Loup [FR/FR]; 18, boulevard Voltaire, F-75011 Paris (FR).			
(54) Title: COMPOSITION FOR USE IN THE TREATMENT OF TUMOURS AND THE IMMUNIZATION OF HUMANS AND ANIMALS (54) Titre: COMPOSITION POUR LE TRAITEMENT DE TUMEURS ET L'IMMUNISATION D'ORGANISMES A L'ENCONTRE DE TUMEURS (57) Abstract Composition for use in the treatment of tumors and the immunization of humans or animals comprising a synergistic association of cells, viruses, or bacteria expressing, transitorily, in organisms at least one gene for producing in vivo one or more immunomodulators, and viruses, or cells producing viruses, said viruses preferably infecting dividing cells of the treated organisms and carrying within their genome at least one gene whose expression in the dividing cells will cause their destruction. (57) Abrégé Composition destinée à traiter les tumeurs d'organismes humains ou animaux et à immuniser ces organismes à l'encontre des tumeurs, ladite composition comprenant en association synergique: des cellules, des virus, ou des bactéries exprimant de manière transitoire dans l'organisme au moins un gène leur permettant de produire in vivo un ou plusieurs immunomodulateurs, et des virus, ou des cellules produisant des virus, lesdits virus infectant préférentiellement les cellules en division de l'organisme traité et portant dans leur génome au moins un gène dont l'expression dans les cellules en division va entraîner leur mort.			

BEST AVAILABLE COPY

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AT	Autriche	GB	Royaume-Uni	MR	Mauritanie
AU	Australie	GE	Géorgie	MW	Malawi
BB	Barbade	GN	Guinée	NE	Niger
BE	Belgique	GR	Grèce	NL	Pays-Bas
BF	Burkina Faso	HU	Hongrie	NO	Norvège
BG	Bulgarie	IE	Irlande	NZ	Nouvelle-Zélande
BJ	Bénin	IT	Italie	PL	Pologne
BR	Brsil	JP	Japon	PT	Portugal
BY	Bélarus	KE	Kenya	RO	Roumanie
CA	Canada	KG	Kirghizistan	RU	Fédération de Russie
CF	République centrafricaine	KP	République populaire démocratique de Corée	SD	Soudan
CG	Congo	KR	République de Corée	SE	Suède
CH	Suisse	KZ	Kazakhstan	SI	Slovénie
CI	Côte d'Ivoire	LJ	Liechtenstein	SK	Slovaquie
CM	Cameroun	LI	Liechtenstein	SN	Sénégal
CN	Chine	LK	Sri Lanka	TD	Tchad
CS	Tchécoslovaquie	LU	Luxembourg	TG	Togo
CZ	République tchèque	LV	Lettonie	TJ	Tadjikistan
DE	Allemagne	MC	Monaco	TT	Trinité-et-Tobago
DK	Danemark	MD	République de Moldova	UA	Ukraine
ES	Espagne	MG	Madagascar	US	Etats-Unis d'Amérique
FI	Finlande	ML	Mali	UZ	Ouzbékistan
FR	France	MN	Mongolie	VN	Viet Nam
GA	Gabon				

"COMPOSITION POUR LE TRAITEMENT DE TUMEURS ET
L'IMMUNISATION D'ORGANISMES A L'ENCONTRE DE TUMEURS".

La présente invention a pour objet une
composition pour le traitement de tumeurs et
5 l'immunisation d'organismes à l'encontre de tumeurs.

Il a été établi très récemment, par diverses
équipes scientifiques, que l'injection localisée dans
des organismes, atteints par une tumeur, de cellules
tumorales syngéniques produisant une interleukine
10 permettait le rejet de cette tumeur par l'organisme.

Ceci a été mis en évidence pour l'interleukine-
2 par Bubenik et al. (Immunology Letters, 19, 279-
282, 1988; Immunology Letters, 23, 287-292, 1989) et
confirmé notamment par Fearon et al. (Cell., 60, 397-
15 403, 1990) et par Ley et al., (European Journal of
Immunology 1991, 21 : 851-854; Res. Immunol., 1990,
141: 855-863).

Les auteurs de ces articles mentionnent que le
rejet s'accompagne d'une mémorisation de la réponse.
20 L'animal est ainsi vacciné contre le développement
ultérieur d'une tumeur d'un même type, même si celle-
ci a été greffée sur un site différent.

Des cellules cancéreuses syngéniques produisant
l'Interleukine-4 ont aussi été testées avec des
25 résultats semblables, comme le rapportent Golumbek
(Science, 254, 713 - 716, 1991) et Tepper et al.
(Cell, 57, 503-512, 1989) ainsi que des cellules
produisant le facteur de nécrose des tumeurs (TNF)
comme le décrit Blankenstein et al. (J. Exp. Med.,
30 173, 1047-1052, 1991).

Il a aussi été évoqué (Pardoll, Current Opinion
in Oncology, Vol.4, N°6, 1124-1129, 1992) la
possibilité de co-introduire dans des cellules
tumorales issues de l'organisme à traiter, d'une part
35 des gènes codant pour des cytokines et, d'autre part,

des gènes suicides tels que le gène de la thymidine-kinase du virus de l'herpès (HSVTK).

L'auteur mentionne que cette stratégie est particulièrement compliquée et nécessiterait la transduction de 100% des cellules.

Cette stratégie a néanmoins été testée dans la demande PCT/US 91/06 612 au nom de THE JOHN HOPKINS UNIVERSITY et THE UNIVERSITY OF TEXAS SYSTEM qui a pour objet des compositions destinées à potentialiser la réponse immunitaire à l'encontre d'une tumeur, comprenant des cellules issues de cette tumeur:

- qui expriment un polypeptide immunopotentialisateur , et
- possèdent un gène susceptible de tuer ces cellules, ou gène suicide.

Le polypeptide immunopotentialisateur peut être une cytokine telle qu'une interleukine 1 ou 2. Le gène suicide peut être par exemple le gène de la thymidine-kinase.

Les compositions cellulaires objets de cette demande sont issues de l'organisme à traiter et sont donc syngéniques pour cet organisme. Elles ne comprennent pas de virus.

Les systèmes décrits dans ces publications présentent des inconvénients en vue de leur application à l'homme .

En effet, dans toutes ces publications, les cellules produisant les interleukines sont des cellules de l'individu ou d'un individu syngénique , qui ont été modifiées afin qu'elles expriment l'interleukine.

Dans le cas d'une thérapie humaine , un inconvénient de cette méthodologie réside dans le fait que les cellules exprimant l'interleukine et injectées à l'organisme risquent de continuer à se développer

même après le rejet de la tumeur .

5 Afin de pallier cet inconvénient , une méthode de traitement thérapeutique a été testée , qui consiste à injecter à l'organisme des cellules allogéniques ou xénogéniques exprimant des gènes leur permettant de produire in vivo une ou plusieurs substances biologiquement actives, telles que de l'Interleukine-2 (voir la demande de brevet FR 91 14 119 du 15 Novembre 1991 intitulée " Composition cellulaire pour le traitement des organismes humains ou animaux") .

10 Cette méthode permet un traitement transitoire de l'organisme par ces substances , car les cellules , du fait de leur nature immunologique, sont rejetées par l'organisme .

15 Ce traitement a été testé par injection à proximité de cellules tumorales (tumeur LPB) de cellules allogéniques produisant de l'Interleukine-2, 9 jours après inoculation par les cellules tumorales . On observe un effet bénéfique se traduisant par un ralentissement de la croissance tumorale sur quelques jours .

20 Cet effet est transitoire et ne permet pas toujours, dans les conditions utilisées , d'induire une mémorisation immunitaire spécifique de la cellule tumorale inoculée. En effet, chez les animaux ainsi traités , l'inoculation ultérieure de la même cellule tumorale (tumeur de Lewis) peut se traduire par une croissance tumorale .

25 En outre, l'effet observé , c'est-à-dire le ralentissement de la croissance tumorale , n'est pas toujours suffisant pour provoquer l'élimination dans l'ensemble de la masse tumorale .

30 On remarquera que , dans toutes les expériences décrites dans l'état de la technique , on mesure généralement l'absence de croissance tumorale sur un

35

animal sain et très rarement sur des tumeurs préétablies . Ainsi , GOLUMBEK et al,((1991) Science, 254, 713-716) et PORGADOR et al.((1992) Cancer Res. 52; 3679-3686) , ont dans les deux cas
5 injecté une composition dans le but de traiter une tumeur préétablie , mais au moment du traitement la tumeur préétablie n'était ni visible ni décelable macroscopiquement.

Dans une approche différente TROJAN et al.,
10 ((1992) Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 89, 4874-4878 , (1993) Science, 259, 94-97) ont modifié l'immunogénicité d'une tumeur chez le rat (gliome) en transfectant les cellules tumorales avec un vecteur codant pour un DNA complémentaire antisens de l'IGF1
15 (Insulin-like Growth Factor 1). Les auteurs mentionnent que l'injection de ces cellules modifiées se traduit par l'absence de tumorigénicité et par un effet à distance sur une tumeur préétablie . Néanmoins, cette approche est limitée à des cellules
20 tumorales sécrétant de l'IGF comme facteur autocrine de croissance et elle nécessite une manipulation de chaque cellule tumorale pour générer une réponse immunitaire spécifique .

Une autre proposition basée sur l'infection de
25 cellules tumorales par un rétrovirus portant le gène codant pour la thymidine kinase de l'herpès a été testée sur deux modèles. Dans le premier modèle Culver et al. ((1992) Science, 256, 1550-1552) développent une approche thérapeutique dans laquelle on injecte,
30 dans un gliome (tumeur du cerveau) de rat, des cellules xénogéniques produisant un vecteur rétroviral, dans lequel le gène codant pour la thymidine kinase de l'herpès a été inséré. Après production locale de particules virales TK⁺ , qui vont
35 infecter les cellules à croissance rapide (cellules

tumorales) , le traitement systémique par le Ganciclovir (Merck Index, référence 4262) induit une régression massive de la masse tumorale préétablie. Cependant, l'efficacité de ce type de traitement n'est pas totale , puisque dans l'expérience décrite, seulement onze animaux sur les quatorze traités voient une régression tumorale complète macroscopique et microscopique . De plus, on injecte un petit nombre de cellules tumorales (4×10^4 cellules) et le traitement (injection de cellules fibroblastiques produisant des particules virales TK⁺) est effectué très tôt (dès le cinquième jour) après l'inoculation des cellules tumorales . L'inconvénient principal reste néanmoins que l'on n'a pas observé dans ce modèle de mémoire immunitaire vis-à-vis d'une inoculation secondaire des mêmes cellules tumorales.

Le second modèle développe une approche relativement similaire à celle précitée . On traite des tumeurs hépatiques établies et macroscopiques par injection intratumorale de fibroblastes xénogéniques produisant des particules virales exprimant le gène TK du virus de l'Herpès et infectant sélectivement les cellules tumorales . Après une période de transduction du gène TK dans les cellules tumorales in vivo , la grande majorité de la masse tumorale est éliminée par un traitement par le Ganciclovir (GVC). Cependant les inconvénients principaux restent les mêmes , à savoir l'absence de garantie quant à l'élimination totale des cellules tumorales et la mémorisation.

Ces deux approches font appel à des cellules xénogéniques capables d'exprimer des particules virales pouvant transduire le gène TK dans les cellules tumorales . La seconde approche , comparée à celle développée par Culver et al., est plus efficace , car elle mime une situation de métastases hépatiques

d'un cancer primaire du colon, et elle intervient sur un foyer tumoral bien développé et visible macroscopiquement .

5 Dans une autre technique décrite dans la demande PCT/US 92/06 188 (UNIVERSITE DE ROCHESTER), on réinjecte à des patients atteints de cancers leurs propres cellules cancéreuses dans lesquelles un gène suicide a été introduit.

10 Les essais décrits dans cette demande montrent que le traitement par ce type de composition cellulaire transgénique, puis par la substance relative au gène suicide, permet d'entraîner la destruction dans l'organisme non seulement des cellules objets de la demande mais aussi des autres
15 cellules cancéreuses. La destruction des cellules transgéniques dans l'organisme entraîne ainsi la destruction des autres cellules cancéreuses non transgéniques. Les compositions décrites dans cette demande ne comprennent pas de virus.

20 Enfin, une technique basée sur l'emploi combiné d'impulsions électriques et d'injections locales de cellules allogéniques ou xénogéniques sécrétant l'Interleukine-2 a été récemment développée (MIR et al., (1992) Compte-Rendu de l'Académie des Sciences de
25 Paris , série III, 314, 539-544).

L'électrochimiothérapie consiste selon MIR et al. (Eur. J. Cancer 1991 , 27, 68-72) à injecter de manière locale de la bléomycine et à appliquer à proximité de la tumeur des impulsions électriques .

30 L'utilisation combinée de ces deux méthodes potentialise l'effet anti-tumoral observé pour chacune des deux méthodes utilisées individuellement .

Cependant , l'électrochimiothérapie présente l'inconvénient majeur , même en combinaison avec
35 l'utilisation de cellules sécrétant de l'Interleukine-

2 , de n'être facilement applicable qu'à des tumeurs dont un foyer au moins est accessible .

Il ressort donc clairement de l'état de la technique analysé ci-dessus que les méthodes décrites
5 ne sont pas toujours efficaces , en particulier à l'encontre de tumeurs établies , et qu'elles ne fournissent pas systématiquement de mémoire immunitaire spécifique de cette tumeur , ou ne permettent qu'un traitement local des tumeurs .

10 Les demandeurs se sont donc attachés à trouver une composition permettant d'obtenir d'une part une disparition rapide d'une tumeur , quelle que soit sa localisation , et d'autre part une immunisation spécifique et à long terme de l'organisme à l'encontre
15 de la tumeur traitée .

Ils ont ainsi mis en évidence de manière surprenante que la combinaison de moyens de sécrétion d'immunomodulateurs, et de vecteurs conduisant de manière spécifique au suicide des cellules tumorales ,
20 permet le plus souvent d'obtenir une disparition rapide et définitive de la tumeur et une immunisation spécifique à long terme de l'organisme à l'encontre de cette tumeur .

La présente invention a donc pour objet une
25 composition destinée à traiter les tumeurs d'organismes humains ou animaux et à les immuniser à l'encontre de cette tumeur, ladite composition comprenant en association synergique :

- des cellules , des virus , ou des bactéries
30 exprimant de manière transitoire dans l'organisme au moins un gène leur permettant de produire in vivo un ou plusieurs immunomodulateurs , et

- des virus , ou des cellules produisant des virus , lesdits virus infectant, si possible ,
35 préférentiellement les cellules en division de

l'organisme à traiter , et portant dans leur génome au moins un gène dont l'expression dans les cellules en division va entraîner leur mort .

5 Avantageusement , la composition telle que décrite ci-dessus est composée de cellules produisant in vivo un ou plusieurs immunomodulateurs et produisant en outre des virus portant dans leur génome au moins un gène dont l'expression dans les cellules en division va entraîner leur mort .

10 Les cellules utilisées dans ces compositions seront préférentiellement des cellules allogéniques ou xénogéniques, afin de permettre leur élimination des organismes traités . Elles pourront elles-mêmes être infectées par ou productrices de virus portant dans
15 leur génome au moins un gène dont l'expression dans des cellules en division va entraîner leur mort, telle que définie ci-dessus .

 Ladite composition peut ainsi comprendre des cellules dans lesquelles le virus utilisé pour
20 infecter les cellules de l'organisme en division est responsable de la production de l'immunomodulateur .

 Les immunomodulateurs sont avantageusement l'Interleukine-2 , l'Interleukine-4, l'Interleukine-7, le TNF (Tumor Necrosis Factor) l'Interféron-gamma,
25 le GM-CSF (Colony Stimulating Factor granulomonocytaire) , seuls ou en combinaison .

 Ces immunomodulateurs peuvent être exprimés, outre les cellules et bactéries citées ci-dessus , à partir de gènes portés sur le génome de virus, tels
30 que des rétrovirus , des virus Pox (virus de la vaccine , Canary Pox), des Adénovirus ainsi que des virus défectifs associés aux Adénovirus (AAV).

 Les bactéries peuvent être des bactéries intracellulaires produisant un immunomodulateur .

35 On notera que les immunomodulateurs peuvent

être apportés par tout moyen, en plus des cellules, des bactéries ou des virus, permettant le relarguage d'immunomodulateurs dans l'organisme : un tel moyen est par exemple une micropompe greffée et libérant des

5 immunomodulateurs dans l'organisme .

Les virus infectant préférentiellement les cellules en division de l'organisme traité et portant dans leur génome au moins un gène dont l'expression dans les cellules en division va entraîner leur mort ,

10 ou agents de lyse , sont préférentiellement des rétrovirus , des Pox virus ou des Adénovirus. Ces virus seront d'autant plus avantageux qu'ils peuvent présenter la propriété d'infecter ou tuer préférentiellement et en majeure partie les cellules

15 de l'organisme qui se divisent .

Ils peuvent être apportés par des cellules choisies afin qu'elles soient éliminées rapidement dans l'organisme notamment allo- ou xénogéniques .

Le gène dont l'expression dans les cellules en

20 division va entraîner leur mort est préférentiellement le gène d'une thymidine kinase ou d'une cytosine déaminase . La mort des cellules portant ces gènes sera induite en leur fournissant respectivement du Ganciclovir et de la 5-fluoro cytidine.

25 La présente invention est en outre relative à l'utilisation de la composition décrite ci-dessus pour la fabrication d'un médicament pour le traitement des tumeurs et cancers et pour l'immunisation de l'organisme à l'encontre de ces maladies.

30 De manière avantageuse , tous les éléments de la composition sont administrés simultanément . Ils peuvent être présentés simultanément ou indépendamment.

Il est aussi possible d'administrer de manière

35 décalée dans le temps les deux composants principaux .

Ainsi , avantageusement, on administre tout d'abord les virus, ou cellules produisant les virus , infectant préférentiellement les cellules de l'organisme en division et portant dans leur génome au moins un gène, dont l'expression dans les cellules en division va entraîner leur mort , puis les substrats, dont la métabolisation par les cellules en division va entraîner leur mort .

Cette phase d'élimination de la masse tumorale est suivie d'une phase d'immunisation de l'organisme à l'encontre de cette tumeur par administration des cellules , des virus ou des bactéries exprimant les immunomodulateurs.

La composition selon l'invention peut être introduite par tout moyen à la portée de l'homme du métier et en particulier par injection à la seringue sous imagerie médicale.

Ce traitement est avantageusement local mais peut tout aussi bien être systémique .

La présente invention est illustrée par l'exemple ci-après en référence à la figure unique annexée qui représente la carte du vecteur rétroviral PMTK .

EXEMPLE :

Traitement de souris présentant des tumeurs par des cellules sécrétant de l'Interleukine-2 et produisant le rétrovirus PMTK.

Des souris C56 BL/6 présentant des tumeurs ont été traitées par une composition contenant des cellules allogéniques produisant de l'Interleukine-2 et le rétrovirus PMTK qui porte le gène de la thymidine kinase du virus HSV1.

Les injections ont été effectuées près des tumeurs .

Le vecteur PMTK (voir figure) présente les

caractéristiques suivantes :

- LTR-5'- Mov3 jusqu'au site BamH1 (-350 du départ de transcription),
- Mov13 du site BamH1 (-350) jusqu'au site Kpn1
5 (+ 30)
- Mov9 du site Kpn1 (+30) jusqu'au site Pst1 (+560) (contient la séquence de conditionnement)
- La séquence non codante en 3' du site ClaI (+ 7674) jusqu'à U3 (+ 7817) provient de Mov3.
10 LTR-3' - Mov3 jusqu'au site BamH1 positionné en 7910 (ou -350),
- Mov13 jusqu'à la fin de U5.

Une lignée cellulaire de conditionnement CRIP est co-transfectée par le plasmide pMTK (20µg) et
15 le plasmide pWLNeO (1 µg). Plusieurs clones ont été isolés en sélection G418 .

Le titre du clone sélectionné est de 5.10^5 particules infectieuses/ml, tel que mesuré par la capacité de conférer une résistance en HAT
20 (Hypoxanthine, Aminoptérine, Thymidine) pour des cellules L TK⁻. L'infection des cellules L TK⁻ se réalise avec des dilutions successives du surnageant contenant les particules virales .

REVENDICATIONS

1. Composition destinée à traiter les tumeurs d'organismes humains ou animaux et à immuniser ces organismes à l'encontre des tumeurs, ladite composition comprenant en association synergique :

- des cellules, des virus, ou des bactéries exprimant de manière transitoire dans l'organisme au moins un gène leur permettant de produire in vivo un ou plusieurs immunomodulateurs , et

- des virus , ou des cellules produisant des virus, lesdits virus infectant préférentiellement les cellules en division de l'organisme traité et portant dans leur génome au moins un gène dont l'expression dans les cellules en division va entraîner leur mort .

2. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que les cellules produisent in vivo un ou plusieurs immunomodulateurs et produisent en outre des virus portant dans leur génome au moins un gène dont l'expression dans les cellules en division va entraîner leur mort .

3. Composition selon l'une des revendications 1 et 2 caractérisée en ce que les cellules sont allogéniques ou xénogéniques pour les organismes traités.

4. Composition selon l'une des revendications 1 à 3 , caractérisée en ce que les immunomodulateurs sont l'Interleukine-2, l'Interleukine-4, l'Interleukine-7, le TNF , l'Interféron-gamma, le GM-CSF , seuls ou en combinaison .

5. Composition selon l'une des revendications 1 à 3 , caractérisée en ce que les virus portent un gène exprimant la thymidine kinase ou la cytosine déaminase.

6. Composition selon l'une des revendications 1 à 5, caractérisée en ce que les virus sont des

rétrovirus , des Adénovirus , des virus associés aux Adénovirus ou des virus Pox.

5 7. Utilisation de la composition selon l'une des revendications 1 à 6 pour la fabrication d'un médicament pour le traitement des tumeurs et cancers et/ou l'immunisation de l'organisme à l'encontre de ces maladies .

10 8. Utilisation selon la revendication 7, caractérisée en ce que les différents composants de la composition sont présentes simultanément ou indépendamment .

15 9. Utilisation selon la revendication 7, caractérisée en ce que les virus , ou les cellules produisant les virus, infectant préférentiellement les cellules d'organismes en division , et portant dans leur génome au moins un gène dont l'expression dans les cellules en division va entraîner leur mort , sont administrés antérieurement ou simultanément à l'administration des cellules, virus , ou bactéries, produisant les immunomodulateurs.

20 10. Utilisation selon l'une des revendications 6 à 9 , caractérisée en ce que les cellules, virus ou bactéries produisant les immunomodulateurs sont remplacés par tout autre moyen permettant le relargage d'immunomodulateurs dans l'organisme , tel
25 qu'une micropompe .

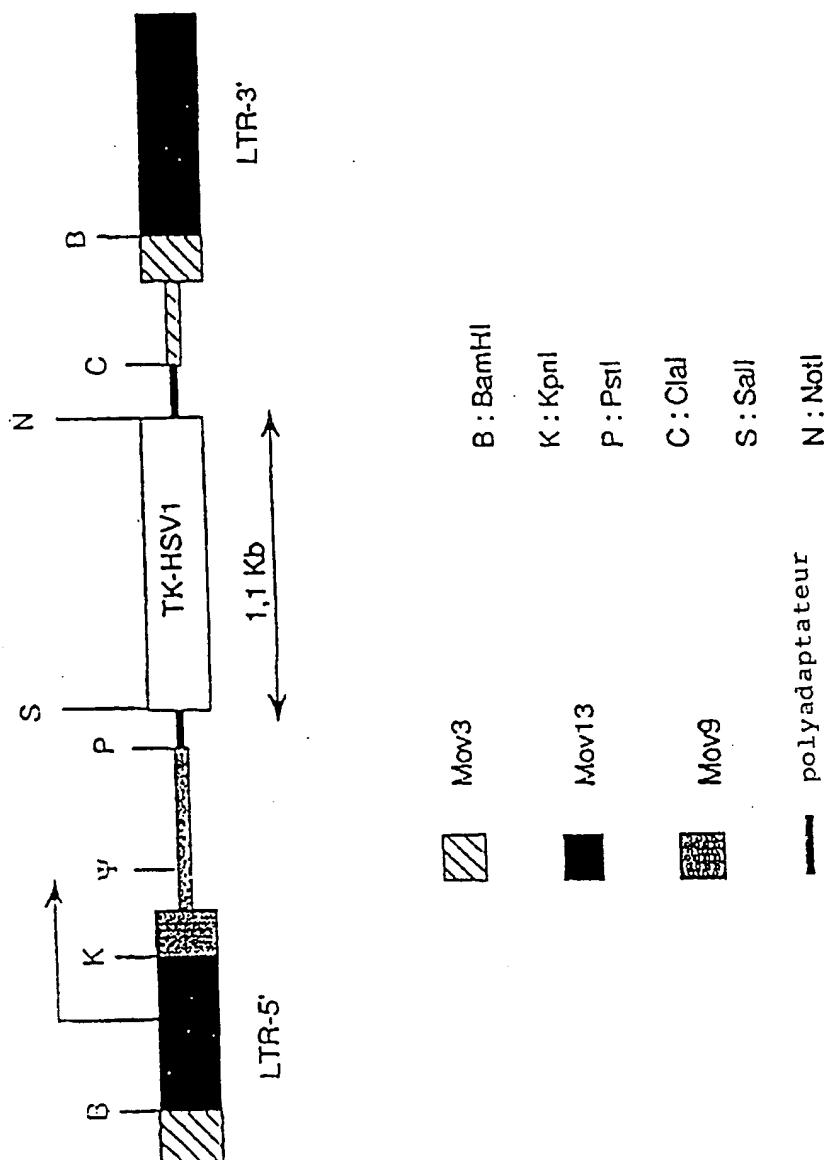


FIGURE UNIQUE

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/FR 94/00192

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 5 A61K48/00 A61K37/52 A61K37/54 A61K37/66 A61K9/00
/(A61K37/52,37:02),(A61K37/54,37:02),(A61K37/66,37:52),
(A61K37/66,37:54)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 5 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO,A,93 02556 (UNIVERSITY OF ROCHESTER) 18 February 1993 cited in the application	1-9
Y	see page 6, line 14 - page 20, line 14; example 17	10
X	WO,A,92 05262 (THE JOHN HOPKINS UNIVERSITY) 2 April 1992 cited in the application	1-9
Y	see page 3, line 32 - page 9, line 7 see page 42, line 3 - line 11	10
	-/--	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

G document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

25 May 1994

Date of mailing of the international search report

02-06-1994

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Sitch, W

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/FR 94/00192

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CURRENT OPINION IN ONCOLOGY vol. 4, no. 6 , December 1992 pages 1124 - 1129 PARDOLL 'IMMUNOTHERAPY WITH CYTOKINE GENE-TRANSDUCE TUMOR CELLS:THE NEXT WAVE IN GENE THERAPY FOR CANCER' cited in the application	1-9
Y	* le document en entier,et surtout page 1128,alinéa 1 *	10
Y	--- US,A,5 061 488 (WILTROUT ET AL) 29 October 1991 see column 6, line 4 - line 10; claim 1 ---	10
A	SCIENCE vol. 256, no. 5063 , June 1992 , WASHINGTON D.C.,USA pages 1550 - 1552 CULVER ET AL 'IN VIVO GENE TRANSFER WITH RETROVIRAL VECTOR-PRODUCER CELLS FOR TREATMENT OF EXPERIMENTAL BRAIN TUMORS' cited in the application see the whole document ---	
P,X	WO,A,93 21959 (THE UNITED STATES OF AMERICA) 11 November 1993	1-9
P,Y	see the whole document -----	10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 94/00192

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO-A-9302556	18-02-93	CA-A- 2113990	18-02-93
WO-A-9205262	02-04-92	AU-A- 8764391	15-04-92
		CA-A- 2091346	15-03-92
		EP-A- 0551401	21-07-93
		JP-T- 6501161	10-02-94
US-A-5061488	29-10-91	US-A- 5096707	17-03-92
WO-A-9321959	11-11-93	AU-B- 4221793	29-11-93

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Dem Internationale No
PCT/FR 94/00192

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 5 A61K48/00 A61K37/52 A61K37/54 A61K37/66 A61K9/00
/(A61K37/52, 37:02), (A61K37/54, 37:02), (A61K37/66, 37:52),
(A61K37/66, 37:54)

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 5 A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	WO,A,93 02556 (UNIVERSITY OF ROCHESTER) 18 Février 1993	1-9
Y	cité dans la demande voir page 6, ligne 14 - page 20, ligne 14; exemple 17	10
X	WO,A,92 05262 (THE JOHN HOPKINS UNIVERSITY) 2 Avril 1992	1-9
Y	cité dans la demande voir page 3, ligne 32 - page 9, ligne 7 voir page 42, ligne 3 - ligne 11	10
	--- -/--	

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- *A* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- *E* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- *L* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- *O* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- *P* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

T document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

X document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

Y document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

& document qui fait partie de la même famille de brevets

2

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

25 Mai 1994

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

02-06-1994

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Sitch, W

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Dem. Internationale No
PCT/FR 94/00192

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	CURRENT OPINION IN ONCOLOGY vol. 4, no. 6 , Décembre 1992 pages 1124 - 1129 PARDOLL 'IMMUNOTHERAPY WITH CYTOKINE GENE-TRANSDUCE TUMOR CELLS:THE NEXT WAVE IN GENE THERAPY FOR CANCER' cité dans la demande	1-9
Y	* le document en entier,et surtout page 1128,alinéa 1 *	10
Y	--- US,A,5 061 488 (WILTROUT ET AL) 29 Octobre 1991 voir colonne 6, ligne 4 - ligne 10; revendication 1 ---	10
A	SCIENCE vol. 256, no. 5063 , Juin 1992 , WASHINGTON D.C.,USA pages 1550 - 1552 CULVER ET AL 'IN VIVO GENE TRANSFER WITH RETROVIRAL VECTOR-PRODUCER CELLS FOR TREATMENT OF EXPERIMENTAL BRAIN TUMORS' cité dans la demande voir le document en entier ---	
P,X	WO,A,93 21959 (THE UNITED STATES OF AMERICA) 11 Novembre 1993	1-9
P,Y	voir le document en entier -----	10

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Des : Internationale No

PCT/FR 94/00192

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO-A-9302556	18-02-93	CA-A- 2113990	18-02-93
WO-A-9205262	02-04-92	AU-A- 8764391	15-04-92
		CA-A- 2091346	15-03-92
		EP-A- 0551401	21-07-93
		JP-T- 6501161	10-02-94
US-A-5061488	29-10-91	US-A- 5096707	17-03-92
WO-A-9321959	11-11-93	AU-B- 4221793	29-11-93

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☒ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.